

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 03 May 1999 (03.05.99)	Applicant's or agent's file reference 600.346W011
International application No. PCT/US97/22228	Priority date (day/month/year) 06 December 1996 (06.12.96)
International filing date (day/month/year) 05 December 1997 (05.12.97)	
Applicant SCHLIEVERT, Patrick, M. et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

02 July 1998 (02.07.98)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer Beate Giffo-Schmitt</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

REC'D 02 JUL 1998
WIPO PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 600.346WO11	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/US97/22228	International filing date (day/month/year) 05/12/1997	Priority date (day/month/year) 06/12/1996
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N15/31		
Applicant REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.



2. This REPORT consists of a total of 11 sheets, including this cover sheet.

- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 02/07/1998	Date of completion of this report 25.03.99
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0 Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Authorized officer BULCAO DE MELO ..., T Telephone No. (+49-89) 2399 8972 

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/US97/22228

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

Description, pages:

1-77 as originally filed

Claims, No.:

1-18 as originally filed

Drawings, sheets:

1/14-14/14 as originally filed

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

4. Additional observations, if necessary:

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
☒ claims Nos. 17 and 18.

because:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/US97/22228

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 17 and 18 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

see separate sheet

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):
- ☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- ☐ no international search report has been established for the said claims Nos. .

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

see separate sheet

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. .

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/US97/22228

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-6, 12, 15 and 16
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	7-11, 13 and 14
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-16
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

SECTION III

1. According to **Article 34(4)(a)(I) PCT** and **Rule 67.1(iv) PCT** the International Preliminary Examination Authority is not required to carry out an international preliminary examination on an international application if, and to the extent to which, its subject-matter concerns methods for the treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.

The subject-matter of **claims 17 and 18** relates to methods for treatment of the human or animal body. Therefore, no opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability is established for said claims.

SECTION IV

2. The present application does not comply with the requirement of unity of invention (**Article 34(3) and Rules 13 and 68 PCT**).

- 2.1. An application must relate to one invention only or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept.

Unity of invention is fulfilled only when there is a technical relationship among the inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features, wherein special technical features means the particular technical feature or features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art.

- 2.2. The technical relationship among the present subject-matter of **claims 1-18** is that they all relate to mutant SPE-A toxins having at least one amino acid change and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin.

However, this relation cannot be accepted to consist of a "special technical feature" as defined above, since it does not define a contribution which each of the different claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art.

In fact, several mutant SPE-A toxins, having amino acid changes at various positions and being non-lethal, are well known in the prior art (see D1 and D2). Many of them have been characterised as having, for example, a decrease in mitogenicity for T- cells.

Hence, the general inventive concept of mutant SPE-A toxins having at least one amino acid change and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin cannot be accepted to be novel over the prior art (**Article 33 (2) PCT**).

Thus, the application lacks unity of invention because it is considered that the following separate alleged inventions or group of alleged inventions are not so linked as to form a single general inventive concept.

Invention 1: Claims 6 and 7 (completely) and 1-5 and 8-18 (partially) refer to a mutant SPE-A toxin having at least one amino acid change at asparagine-20, and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin. This invention further concerns vaccine and pharmaceutical compositions comprising said mutant.

Invention 2: Claims 1-5 and 10-18 (partially) refer to a mutant SPE-A toxin having at least one amino acid change at aspartic acid-45, and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin. This invention further concerns vaccine and pharmaceutical compositions comprising said mutant.

Invention 3: Claims 1-5, 8, 9, 12-18 (partially) refer to a mutant SPE-A toxin having at least one amino acid change at lysine-157, and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin. This invention further concerns vaccine and pharmaceutical compositions comprising said mutant.

Invention 4: Claims 1-5 and 8-18 (partially) refer to a mutant SPE-A toxin having at least one amino acid change at cysteine-98, and being nonlethal compared to wild-type SPE-A toxin. This invention further concerns vaccine and pharmaceutical compositions comprising said mutant.

- 2.3. Prima facie analysis of the various claims in the above defined inventions reveals that several of the claimed specific mutant SPE-A toxins had been known in the art. Hence, it would appear that the 4 above defined inventions, each for its own, would lack unity of invention a posteriori. However, the International Preliminary Examination Authority considers more expedient not to formulate a formal unity objection for these possible further inventions (around 18).
- 2.4. From the above, it is clear that the IPEA considers the application to contain 4 independent inventions. Nevertheless, full examination of the four inventions of the present application has been carried out.

SECTION V

3. Reference is made to the following documents:

D1: Infect. Immun., Vol. 64, No. 3, 1996, pages 861-869

D2: Intern. Immun., Vol. 5, No. 8, 1993, pages 869-875

4. The present International Preliminary Examination Report has been established with the assumption that the **priority date** 06/12/96 is validly claimed. Therefore, documents WO-A-96 40930 and Infect. Immun., Vol. 65, No. 7, 1997, pages 2868-2875, have not been considered to be part of the prior art as defined in the regulations (**Rule 64 (1) and (3) PCT**).

5. Novelty (Article 33(2) PCT)

The present application does not satisfy the criterion set forth in **Article 33 (2) PCT** because the subject-matter of **claims 1-6, 12, 15 and 16** is considered to be part of the prior art as defined in the regulations (**Rule 64 (1)-(3) PCT**).

- 5.1. Document **D1** discloses mutant SPE-A toxins having at least one amino acid change, notably asparagine-20 (positioned in N-terminal alpha helix 3), aspartic acid-45 (positioned in domain B beta strand 2) and cysteine-98, including the mutant toxin SPE-A C98S (substitution of cysteine 98 to serine). Said mutant SPE-A toxins are substantially non lethal compared with the wild type SPE-A toxin and have a decrease in mitogenicity for T-cells.

The site-directed mutagenesis, to generate the point mutations, was performed by PCR. Therefore, D1 implicitly discloses a DNA sequence encoding mutant SPE-A toxins and a host comprising said DNA sequence.

(See Abstract, paragraph bridging pages 861 and 862, page 862, third and fourth full paragraph, page 863, left hand column, line 29-page 865, left hand column line 20, Figures 2 and 4 and Discussion).

Thus, the subject-matter of **claims 1-6, 12, 15 and 16** is not novel over **D1**.

- 5.2. Document **D2** discloses mutant SPE-A toxins having one amino acid change, being substantially non lethal compared with the wild type SPE-A toxin and having a decrease in mitogenicity for T-cells. Site-directed mutagenesis, performed by PCR, was used to introduce point mutations into the *speA* gene.

(See Abstract, page 870, left hand column, third full paragraph, page 873, left hand column and Discussion).

Thus, the subject-matter of **claims 1, 12, 15 and 16** is not novel over **D1**.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/US97/22228

6. Inventive Step (Article 33(3) PCT)

The present application does not satisfy the criterion set forth in **Article 33 (3) PCT** because the subject-matter of **claims 7-11, 13 and 14** does not involve an inventive step (**Rule 65 (1) and (2) PCT**).

- 6.1. Regarding that multiple mutant SPE-A toxins are already known in the art (**D1** discloses mutants having two amino acid substitutions, see for example page 862, third full paragraph), the person skilled in the art would not require any inventive skills in order to provide alternative double mutants and further multiple mutant SPE-A toxins (**claims 8 and 10**).

The particular amino acid substitutions for asparagine-20 (**claim 7**), lysine-157 (**claim 9**) and aspartic acid-45 (**claim 11**) do not appear to provide any unexpected effect, and are therefore regarded as mere arbitrary selections, on which an inventive step cannot be acknowledged.

Thus, the subject-matter of **claims 7-11** does not involve an inventive step.

- 6.2. Document **D2** discloses that the mutant SPE-A toxins therein described are able to induce neutralizing anti-SPE-A antibodies and further suggests that said mutant toxins appear to be suitable for vaccination purposes (page 869, right hand column, last full paragraph and paragraph bridging pages 874 and 875).

Regarding the properties of the mutant SPE-A toxins, the provision of vaccine and pharmaceutical compositions comprising said mutant toxins is considered to be an obvious procedure to the person skilled in the art.

The subject-matter of **claims 13 and 14** does not involve an inventive step. Said claims should relate to novel and inventive mutant SPE-A toxins.

7. Industrial Applicability (Article 33(4) PCT)

The subject-matter of present **claims 1-16** is susceptible of industrial applicability as defined in **Article 33 (4) PCT**.

SECTION VIII

8. The present application does not satisfy the criterion set forth in **Article 6 PCT** because the following claims are not clear.

8.1. A toxin (**claim 1**) and a DNA (**claim 15**), regarded as chemical products, should be clearly and unambiguously characterized by technical features, e.g. their amino acid and nucleotide sequences, respectively, and not only by the result to be achieved (**cf. Guidelines for Preliminary Examination (PCT) CIII 4.7 and 4.7a**).

Therefore, the subject-matter of **claims 1 and 15** lacks clarity.

8.2. The term "fragment" renders **claim 1** unclear.

This term is vague and indefinite because it does not indicate either the length of the fragment, the region/domain of the toxin to which the fragment corresponds, the function of fragment, or any particular characteristic that the fragment should have.

Although in the description (page 28 lines 8-26) said fragments are characterised, the meaning of a claim should be clear from the wording of the claim alone (see the **Guidelines for Preliminary Examination (PCT) CIII 4.2.**).

8.3. **Claim 1** lacks clarity due to the expression "at least one" regarding the amino acid changes in the mutant SPE-A toxin. The lack of an upper limit to define the maximum number of amino acid substitutions, as well as the lack of any other limiting feature (technical or functional), leads to a lack of clarity because without indicating how many (or which) amino acids are to be substituted, the subject-matter of claim 1 includes also mutant SPE-A toxins having all its amino acids changed, which no longer is a mutant SPE-A toxin but a completely different protein.

8.4. The expressions "substantially nonlethal" (**claim 1**), "substantially corresponding to wild-type SPE-A toxin" (**claim 1**), and "substantially enhance endotoxin shock" (**claim 12**) are not suitable to clearly define the scope of said claims, because they are without technical significance and their vagueness makes it entirely open to individual interpretation.

8.5. The term "SPE-A" (~~claims~~ **1-15**) is regarded as an acronym and should therefore be clarified.

SECTION VII

- 9. Contrary to the requirements of **Rule 5.1(a)(ii) PCT**, the relevant background art disclosed in documents **D1 and D2** is not mentioned in the description, nor are these documents identified therein.

PCTWORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : C12N 15/31, C07K 14/315, A61K 39/09, C12N 1/21, 5/10	A2	(11) International Publication Number: WO 98/24911 (43) International Publication Date: 11 June 1998 (11.06.98)
(21) International Application Number: PCT/US97/22228 (22) International Filing Date: 5 December 1997 (05.12.97) (30) Priority Data: 60/032,930 6 December 1996 (06.12.96) US (71) Applicant (for all designated States except US): REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA [US/US]; Morrill Hall, 100 Church Street, S.E., Minneapolis, MN 55455 (US). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): SCHLIEVERT, Patrick, M. [US/US]; 5305 Birchcrest Drive, Edina, MN 55436 (US). ROGGIANI, Manuela [IT/US]; 100 Second Street Southeast #803, Minneapolis, MN 55414 (US). STOEHR, Jennifer [US/US]; 3981 Woodridge Circle, Vadnais Heights, MN 55127 (US). OHLENDORF, Douglas [US/US]; 9397 Olympia Drive, Eden Prairie, MN 55347 (US). (74) Agent: BRUESS, Steven, C; Merchant, Gould, Smith, Edell, Welter & Schmidt, P.A., 3100 Norwest Center, 90 South Seventh Street, Minneapolis, MN 55402-4131 (US).		(81) Designated States: AL, AM, AT, AT (Utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, CZ (Utility model), DE, DE (Utility model), DK, DK (Utility model), EE, EE (Utility model), ES, FI, FI (Utility model), GB, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SK (Utility model), SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Published <i>Without international search report and to be republished upon receipt of that report.</i>
(54) Title: MUTANTS OF STREPTOCOCCAL TOXIN A AND METHODS OF USE		
(57) Abstract		
<p>This invention is directed to mutant SPE-A toxins or fragments thereof, vaccine and pharmaceutical compositions, and methods of using the vaccine and pharmaceutical compositions. The preferred SPE-A toxin has at least one amino acid change and is substantially non-lethal compared with the wild type SPE-A toxin. The mutant SPE-A toxins can form vaccine compositions useful to protect animals against the biological activities of wild type SPE-A toxin.</p>		

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece			TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	ML	Mali	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MN	Mongolia	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MR	Mauritania	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MW	Malawi	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	MX	Mexico	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NE	Niger	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NL	Netherlands	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NO	Norway	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	NZ	New Zealand		
CM	Cameroon			PL	Poland		
CN	China	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CU	Cuba	KZ	Kazakhstan	RO	Romania		
CZ	Czech Republic	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
DE	Germany	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Denmark	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
EE	Estonia	LR	Liberia	SG	Singapore		

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 600.346W011	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US 97/ 22228	International filing date (day/month/year) 05/12/1997	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 06/12/1996
Applicant REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA et al.		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. ☒ Certain claims were found unsearchable (see Box I).
2. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).
3. ☒ The international application contains disclosure of a **nucleotide and/or amino acid sequence listing** and the international search was carried out on the basis of the sequence listing
 - ☒ filed with the international application.
 - ☐ furnished by the applicant separately from the international application,
 - ☐ but not accompanied by a statement to the effect that it did not include matter going beyond the disclosure in the international application as filed.
 - ☐ Transcribed by this Authority
4. With regard to the title, ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:
5. With regard to the abstract,
 - ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
 - ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this International Search Report, submit comments to this Authority.
6. The figure of the drawings to be published with the abstract is:
 - Figure No. ☐ as suggested by the applicant.
 - ☐ because the applicant failed to suggest a figure.
 - ☐ because this figure better characterizes the invention.
 - ☒ None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 97/22228

B x I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 17 18 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

B x II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 97/22228

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C12N15/31 C07K14/315 A61K39/09 C12N1/21 C12N5/10
 //(C12N15/31, C12R1:46)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KLING, J. BRADFORD ET AL: "Analysis of the superantigenic activity of mutant and allelic forms of streptococcal pyrogenic exotoxin A" INFECT. IMMUN. (1996), 64(3), 861-9 CODEN: INFIBR; ISSN: 0019-9567, XP002067012 see the whole document ---	1-7, 12-16
X	HARTWIG, UDO F. ET AL: "Mutations affecting MHC class II binding of the superantigen streptococcal erythrogenic toxin A" INT. IMMUNOL. (1993), 5(8), 869-75 CODEN: INIMEN; ISSN: 0953-8178, XP002067013 see figures 1-4 --- -/--	1, 12-16



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 June 1998

Date of mailing of the international search report

02-07-1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gurdjian, D

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 97/22228

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JOHNSON LP ET AL: "Streptococcal pyrogenic exotoxin type A (scarlet fever toxin) is related to Staphylococcus aureus enterotoxin B." MOL GEN GENET, MAY 1986, 203 (2) P354-6, GERMANY, WEST, XP002067014 see the whole document ---	1,13-16
P,X	WO 96 40930 A (UNIV MINNESOTA ;SCHLIEVERT PATRICK M (US); ROGGIANI MANUELA (US);) 19 December 1996 see the whole document ---	1-16
P,X	ROGGIANI, MANUELA ET AL: "Analysis of toxicity of streptococcal pyrogenic exotoxin A mutants" INFECT. IMMUN. (1997), 65(7), 2868-2875 CODEN: INFIBR;ISSN: 0019-9567, XP002067015 see the whole document -----	1-16

Information on patent family members

PCT/US 97/22228

Patent document
cited in search report

Publication date

Patent family member(s)

Publication date

WO 9640930

A

19-12-1996

AU

6278296 A

30-12-1996

EP

0832241 A

01-04-1998

19



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



11 Veröffentlichungsnummer: **0 486 917 A2**

12

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: 91119188.0

22 Anmeldetag: 11.11.91

51 Int. Cl.⁵: **C12N 15/35**, C12P 21/02,
A61K 35/76, G01N 33/569,
C12Q 1/70, C07K 13/00

30 Priorität: 17.11.90 DE 4036784

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:
27.05.92 Patentblatt 92/22

84 Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

71 Anmelder: **BEHRINGWERKE**
Aktiengesellschaft
Postfach 1140
W-3550 Marburg 1(DE)

72 Erfinder: Rittner, Karola
Märzgasse 3
W-6900 Heidelberg(DE)
Erfinder: Sczakiel, Georg, Dr.
Goethestrasse 36
W-6915 Dossenheim(DE)

74 Vertreter: Aulmich, Gerhard, Dr. et al
Hoechst AG Zentrale Patentabteilung
Postfach 80 03 20
W-6230 Frankfurt am Main 80(DE)

54 Antivirale Aktivität des vom adeno-assoziierten Virus Typ 2 codierten rep-Gens.

57 Die Erfindung betrifft die Verwendung eines aus dem adeno-assoziierten Virus Typ 2 stammenden rep-Gens mit antiviraler Aktivität gegenüber dem HIV-1 Virus.

EP 0 486 917 A2

Diese Erfindung betrifft die Verwendung des durch das adenoassoziierte Virus Typ 2 (AAV-2) codierten rep-Gens für die Herstellung eines spezifischen antiviralen Agens.

Weiterhin betrifft die Erfindung Plasmide mit antiviraler Aktivität und einen diagnostischen Kit.

Das menschliche Immun-Mangelsyndrom (AIDS) ist in den vergangenen Jahren zu einem ernstesten Problem für die menschliche Gesellschaft geworden. Obwohl es einige Anmeldungen gibt, die sich mit der Bekämpfung des humanen Immundefizienzvirus (HIV), das mit der AIDS-Erkrankung (kausal) assoziiert ist, befassen, ist eine Bekämpfung dieses Virus bis heute nur ansatzweise gelungen. Einige Mittel sind in der Lage, eine Ausbreitung des Virus in vivo zu reduzieren und erhöhen damit die Lebenserwartung der befallenen Patienten. Jedoch wurde bis heute ein Medikament oder eine Behandlung, die das Virus vollständig zerstört und damit die Gesundheit einer befallenen Person wiederherstellt, nicht gefunden. Alle bis heute verwendeten Arzneimittel gegen HIV besitzen einen schwerwiegenden Nachteil: sie haben sehr starke Nebenwirkungen.

Die Erfinder waren sich dieser großen Nachteile bei der Behandlung von HIV bewußt und haben deshalb nach alternativen antiviralen Faktoren gesucht, die die ernstesten Nebeneffekte bekannter Medikamente nicht mehr zeigen sollten.

Hemmung der Replikation und der Potenz für eine Transformation des Adenovirus (5) und des Herpes simplex-Virus (6) durch den adeno-assoziierten Virus (AAV) sowie auch die Inhibierung der zellulären Transformation, die durch das Rinder-Papillomavirus unterstützt wird (Virology, 172, S. 253-261 (1989)) und die Inhibierung der von HSV induzierten Genamplifikation (Journal of Virology, 64, S. 3012-3018 (1990)) wurden ebenfalls beobachtet.

Das AAV ist ein Helfer-Virus-abhängiges Parvovirus mit einem einzelsträngigen DNA-Genom mit einer ungefähren Länge von 5 kb (Advances in Virus Research, 32, S 243-307 (1987)).

Das Virus hat einen weiten Wirtsbereich und ist abhängig von Helferfunktionen anderer Viren. Jedoch scheint dieses Virus nicht abhängig von Gewebefaktoren oder artspezifischen zellulären Faktoren zu sein. Das Genom enthält zwei nicht-überlappende offene Leseraster, wobei das 3'-gelegene drei virale Mantelproteine codiert und das zweite, das "rep" genannt wird, für vier bekannte rep-Proteine mit Molekulargewichten von 78 kd, 68 kd, 52 kd und 40 kd codiert (Journal of Virology 60, s. 823-832 (1986)). Für das 68 kd rep-Protein wurde eine DNA-bindende Kapazität sowie eine ATP-abhängige Endonuklease-Aktivität und eine DNA-Helikase-Aktivität nachgewiesen (Cell 61, S. 447-457 (1990)). Es ist bekannt, daß die Produkte des

offenen Leserasters (rep) die eigenen Promotoren p5 und p19 in trans regulieren (J. Virol. 63, S. 4450-4454 (1989); Mol. Cel. Biol. 6, S. 2884-2894 (1986)).

Die Erfinder untersuchten eine mögliche negative Interferenz, die sich bei der Replikation des HIV Typ 1 in Gegenwart von intakter AAV-2 DNA ergibt.

Das Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, Faktoren bereitzustellen, die eine antivirale Aktivität besitzen. Ein weiteres Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, speziell einen Faktor zu finden, der HIV-1 inhibierende Aktivität besitzt.

Das Ziel der Erfindung ist durch den Gegenstand des Anspruchs 1 erfüllt. Die Erfinder haben gefunden, daß das sogenannte rep-Gen, das durch das adeno-assoziierte Virus Typ 2 (AAV-2) codiert wird, eine antivirale Aktivität besitzt. Damit kann das rep-Gen oder eine Teilsequenz des Gens für die Herstellung eines spezifischen antiviralen Faktors verwendet werden.

Insbesondere kann mit dem rep-Gen oder Teilsequenzen dieses Gens das HIV-Virus Typ 1 bekämpft werden.

Die Effekte des AAV rep offenen Leserasters, das im kompletten AAV-Genom integriert ist, auf die HIV-1 Replikation wurden in einem transienten Testsystem untersucht (Biochem. Biophys. Res. Comm. 169, S. 643-651 (1990)). Dieses System basiert auf der Co-Mikroinjektion des AAV-Wildtyps oder einer mutanten DNA (J. Virol. 64, S. 3012-3018 (1990)), zusammen mit einer infektiösen HIV-1 proviralen DNA (Klon pNL4-3) (J. Virol. 59, S. 284-291 (1986)) in die Kerne von humanen Epitheloid-SW 480-Zellen. Diese Zellen erlauben die HIV-1 Replikation nach Transfektion, können jedoch nicht mit HIV-1 Virus infiziert werden (J. Virol. 59, S. 284-291 (1986)). HIV-1 Virus wurde anfänglich in co-mikroinjizierten Zellen hergestellt und wurde vermehrt durch Co-Kultivierung mit humanen T-lymphoiden MT-4 Zellen. HIV-1 wurde danach in einem zellfreien Co-Kultur-Überstand mit Hilfe eines kommerziellen HIV-1 Antigen ELISA gemessen (Biochem. Biophys. Res. Comm. 169, S. 643-651 (1990)). Aus diesen Ergebnissen, die in Fig. 1 zusammengefaßt wurden, kann man erkennen, daß die starke Hemmung einer HIV-1 Replikation bei einem molaren Verhältnis von HIV-1 DNA und AAV-DNA von 1 : 10 in anfänglich co-mikroinjizierten Zellen korreliert ist mit der Anwesenheit eines intakten AAV rep offenen Leserasters. Die in der Fig. 1 erwähnten Plasmide (pTAV) wurden beschrieben (Heilbronn et al 1990; J. Virology 64: 3012-3018 bzw. AAV-2 Wildtyp-Sequenz in Laughlin et al. (1983), Gene 23: 65-73). Eine Inaktivierung des rep offenen Leserasters, bei der das cap offene Leseraster gleichzeitig intakt bleibt, er-

Hemmung bei inaktiviertem rep offenen Leseraster ist nicht zu beobachten. Weiterhin ist zu beobachten, daß die rep⁺, rep⁻ Mutante (pTAV2-3), die nicht in der Lage sein sollte, AAV Viruspartikel zu produzieren - selbst dann nicht, wenn eine hypothetische Helfer-Funktion des HIV-1 Virus für die AAV Replikation in SW480-Zellen angenommen werden kann - dieselbe anti-HIV-1-Wirksamkeit besitzt wie der AAV Wildtyp (rep⁺, cap⁺). Diese Beobachtung macht deutlich, daß die Hemmung der HIV-1 Replikation tatsächlich in den mikroinjizierten SW480-Zellen stattfindet und daß dieser Effekt keineswegs durch einen Artefakt hervorgerufen wird, der in einem späten Stadium der Co-Kultur auftritt. Die Produkte der Translation des AAV rep offenen Leserasters sind an der Hemmung der HIV-1 Replikation beteiligt. Deshalb ist ein weiteres bevorzugtes Element der Erfindung, daß die Polypeptide, die nach Translation des offenen Leserasters des AAV rep Gens entstehen, für die Herstellung eines spezifischen antiviralen Faktors verwendet werden können. Diese Proteine können auch Bestandteil eines diagnostischen Kits sein, der wenigstens eines der vier Proteine enthält, die nach der Translation des offenen Leserasters des AAV rep Gens erhalten werden.

Die rep-Gen-vermittelte Hemmung der HIV-1 Replikation ist kein Ergebnis einer möglichen Zelltoxizität der rep-Proteine und basiert deshalb auch nicht auf der Unfähigkeit der befallenen Zellen zur HIV-1 Replikation durch Zerstörung des zelleigenen Syntheseapparats. Die Co-Mikroinjektion eines Rous-Sarcoma Virus LTR-getriebenen β -Galactosidase-Gens mit rep⁺ (pTAV2) oder rep⁻ (pTAV2-3) DNA führt zu keiner Differenz im Prozentsatz von mikroinjizierten Zellen mit β -Galactosidase-Genexpression, wenn diese Expression 24 h nach Injektion gemessen wird. Dies zeigt deutlich, daß SW480-Zellen sehr wohl eine Genexpression in der Gegenwart des rep-Gens erlauben und daß konsequenterweise die mikroinjizierten Zellen ihre Potenz zur HIV-1 Genexpression und zur Virusherstellung behalten.

Die AAV-abhängige Hemmung der HIV-1 Virusreplikation ist von einem intakten rep-Gen abhängig. Es bleibt jedoch offen, welche Elemente des HIV-1 Virus an der negativen Interferenz beteiligt sind. Um zu analysieren, ob Sequenzen, die vom HIV-1 5'-LTR an der repabhängigen Hemmung der HIV-1 Replikation beteiligt sind, wurde die HIV-1 LTR (U3/R-Anteil) getriebene Expression der Chloramphenicolacetyltransferase (CAT) als ein Indikator beobachtet. Das CAT Expressionsniveau wurde in der Gegenwart eines intakten AAV rep-Gens gemessen, wobei der oben beschriebene Test verwendet wurde. Die Ergebnisse zeigen, daß pTAV2-6 (rep⁺), aber nicht pTAV2-3 (rep⁻) die CAT-Expression (Fig. 2a) in einer dosisabhängigen

Weise (Fig. 2b) hemmt. Dies bedeutet, daß der U3/R-Anteil des HIV-1 5'-LTR für eine rep-abhängige Hemmung der Genexpression genügt. Jedoch schließt dies nicht aus, daß das rep-Gen auch noch weitere Schritte der HIV-1 Replikation beeinflusst.

Die Nukleotidpositionen sind für HIV-1 nach Adachi et. al. (1986) J. Virol., 59, 284-291 und für AAV-2 nach Berns und Bozhzky (1987) Adv. Virus Res., 32, 243-307 (Fig. 3).

Fig. 4 beschreibt die Lage der AAH-Sequenz im rep-Gen.

Die biochemischen Eigenschaften und die biologische Rolle der rep-Proteine läßt vermuten, daß es zu einer Interaktion zwischen den rep-Proteinen und den HIV-1-spezifischen Nukleinsäuren kommt. Möglicherweise spielen dabei die DNA oder möglicherweise die RNA, die beide in der U3/R-Sequenz des HIV-1 enthalten sind, eine wichtige Rolle in dem Hemmungsmechanismus von HIV-1. Ein Vergleich der DNA-Sequenz zwischen der HAV-2 DNA und der HIV-1 LTR-Sequenz (Position 1-634, J. Virol. 59, S. 284-291 (1986)) zeigt einen 25 bp-Bereich mit 72 % Sequenzidentität bei den Positionen 16-40 auf der AAV-2 DNA und Positionen 483-507 auf der HIV-1 DNA, die Teil der tar-Sequenz ist.

Weiterhin ist ein Bereich mit einem hohen Grad an Homologie zwischen der errechneten lokalen Sekundärstruktur der HIV-1 tar-Region und der AAV-terminalen Sequenz zu finden. Dies zeigt, daß bei einer möglichen direkten oder indirekten Interaktion zwischen rep-Protein und HIV-1 RNA-Sequenz eine Sekundärstruktur-Erkennung beteiligt ist.

Das AAV rep-Gen hemmt die HIV-Replikation durch die Interaktion mit der Sequenz des HIV-1-LTR. Wie oben gezeigt, kann man durch Vergleich der Sequenzen von AAV-2 und der HIV-1-LTR-Region eine 25 bp lange Sequenz finden, wobei diese Region hochkonserviert ist. Diese Region wurde als "AAH" bezeichnet, wobei diese Region auch auf den Niveau der zweidimensionalen Struktur eine große Homologie zwischen AAV-2 und HIV-1 zeigt. Kompetitions-Experimente mit HIV-1-LTR Fragmenten zeigen, daß die Hemmung (in diesem Fall die rep-abhängige Hemmung der HIV-1-LTR getriebenen CAT-Expression) abhängig ist von der Anwesenheit der AAH-Region. Eine noch drastischere Aufhebung der rep-vermittelten Hemmung der HIV-1 LTR-getriebenen CAT-Expression konnte für ein 25 Basepaare langes, doppelsträngiges DNA-Fragment mit der AAH-Sequenz gezeigt werden. Dies zeigt eindeutig die Beteiligung der AAH-Region am Hemmechanismus.

Dieses Ergebnis zeigt in eindeutiger Weise das antivirale Potential der AAV-codierten rep-Gene. Der Umstand, daß das rep-Gen für die menschlichen SW480-Zellen untoxisch ist und daß durch

die Anwesenheit des rep-Gens ein ausgesprochen hoher Hemmeffekt der HIV-Replikation zu beobachten ist, zeigt in sehr klarer Weise die hervorragenden Eigenschaften des Gegenstandes der vorliegenden Erfindung und die günstigen Voraussetzungen, die für eine Verwendung als antivirales Agens benötigt werden.

Patentansprüche

1. Verwendung eines aus dem adeno-assoziierten Virus Typ 2 (AAV-2) stammenden rep-Gens oder einer Teilsequenz dieses Gens für die Herstellung eines spezifischen antiviralen Wirkstoffs zur Bekämpfung von Virusinfektionen. 10
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das zu bekämpfende Virus das HIV-1 Virus ist. 15
3. Peptide, die Translationsprodukte des offenen Leserasters des AAV rep-Gens sind. 20
4. Peptide nach Anspruch 3, die Translationsprodukte der inserts der Plasmide pTAV2 oder pTAV2-6 sind. 25
5. Diagnostischer Kit enthaltend wenigstens ein Peptid der Peptide der Ansprüche 3 und 4. 30

Patentansprüche für folgende Vertragsstaaten : ES, GR

1. Verwendung eines aus dem adeno-assoziierten Virus Typ 2 (AAV-2) stammenden rep-Gens oder einer Teilsequenz dieses Gens für die Herstellung eines spezifischen antiviralen Wirkstoffs zur Bekämpfung von Virusinfektionen. 35
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das zu bekämpfende Virus das HIV-1 Virus ist. 40
3. Verfahren zur Herstellung von Peptiden mit antiviraler Aktivität, dadurch gekennzeichnet, daß der offene Leseraster des AAV rep-Gens oder Teile davon exprimiert wird. 45
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Plasmide pTAV 2 oder pTAV2-6 exprimiert werden. 50
5. Verfahren zum Nachweis von AAV-2, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens ein Peptid, welches nach einem Verfahren nach Anspruch 3 oder 4 hergestellt wurde, verwendet wird. 55

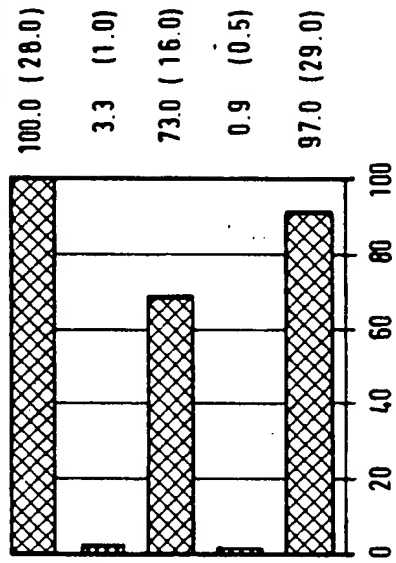
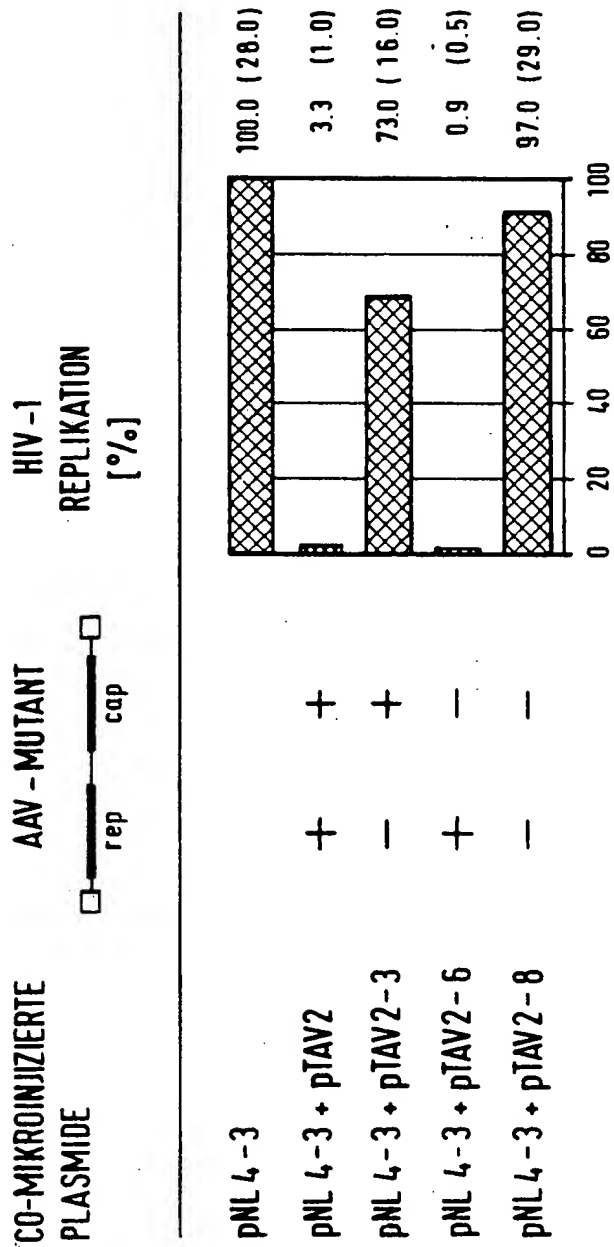


Fig. 1

Fig. 2a

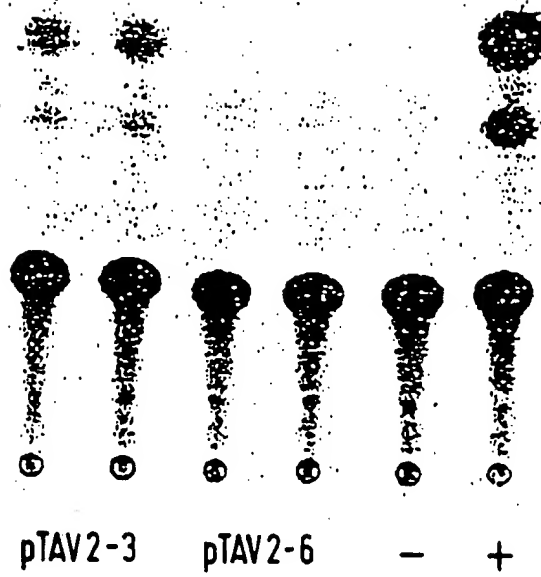


Fig. 2b

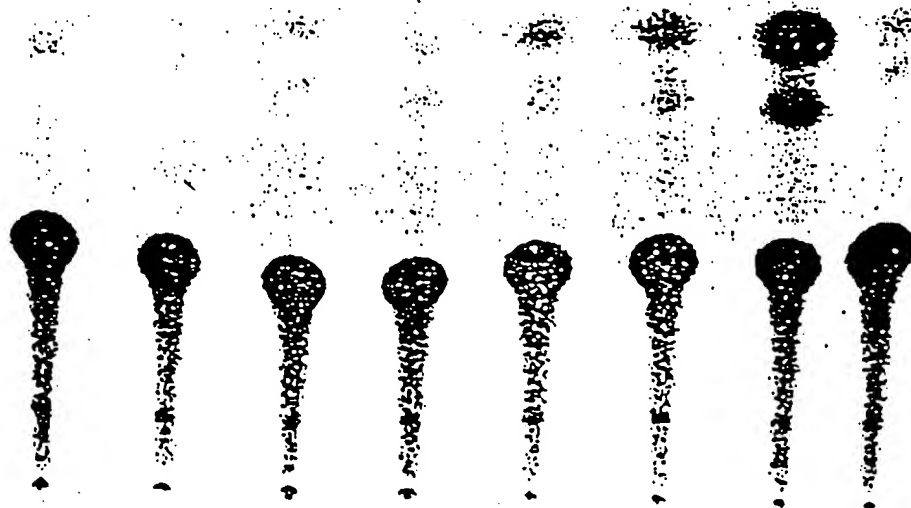


Fig. 3

FIG.3A)

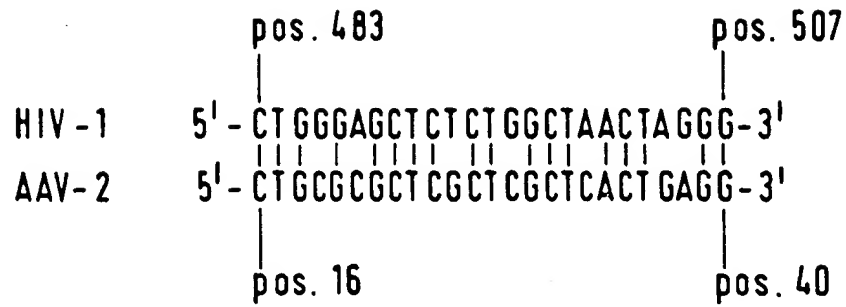


FIG.3B)

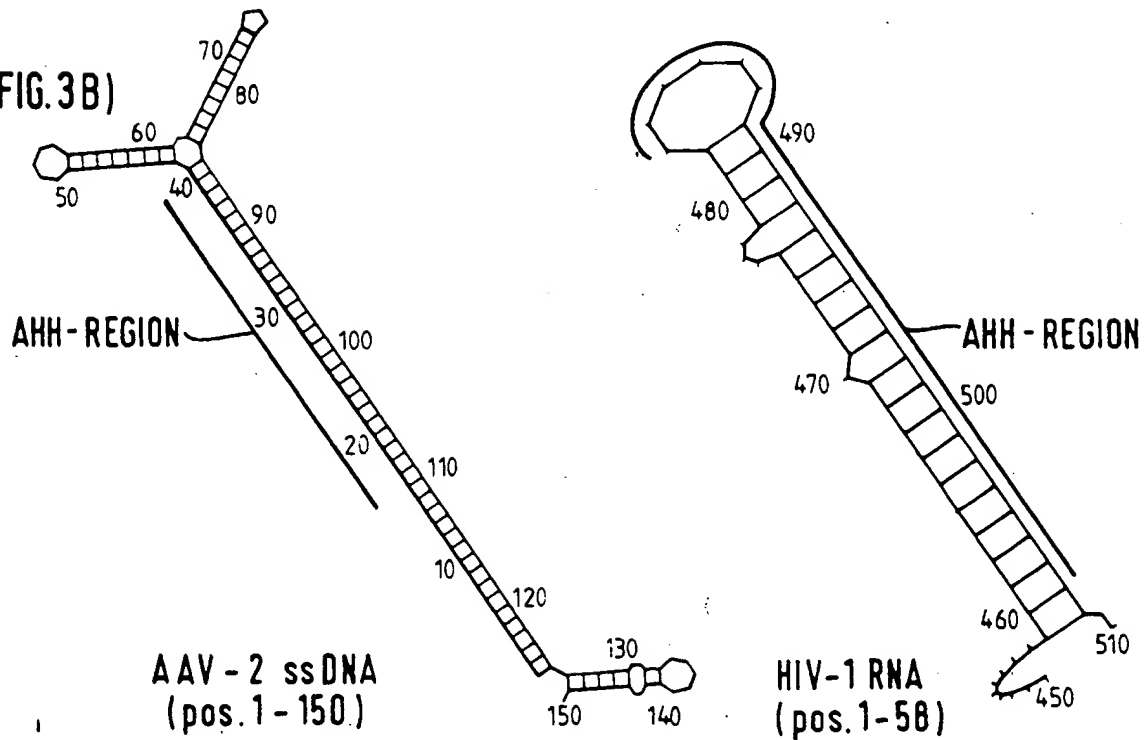
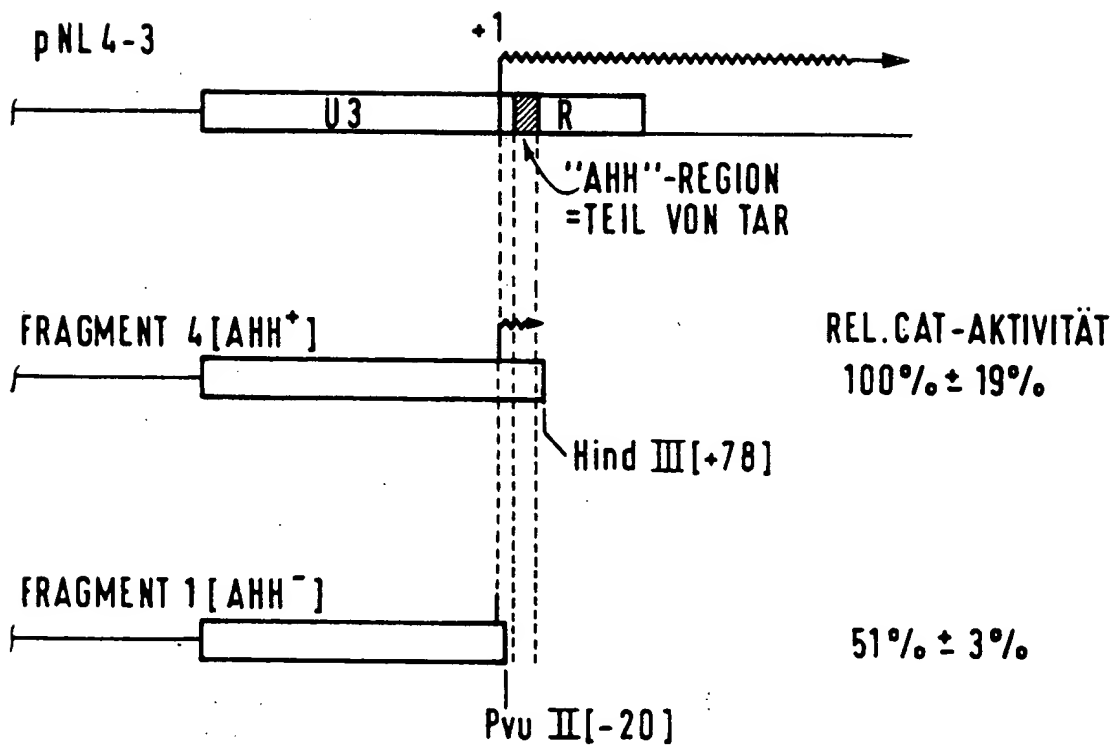


Fig. 4



(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 486 917 A3**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 91119188.0

(51) Int. Cl.⁵: **C12N 15/35, C12P 21/02,
A61K 35/76, G01N 33/569,
C12Q 1/70, C07K 13/00**

(22) Anmeldetag: 11.11.91

(30) Priorität: 17.11.90 DE 4036784

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
27.05.92 Patentblatt 92/22

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

(88) Veröffentlichungstag des später veröffentlichten
Recherchenberichts: 16.12.92 Patentblatt 92/51

(71) Anmelder: **BEHRINGWERKE
Aktiengesellschaft
Postfach 1140
W-3550 Marburg 1(DE)**

(72) Erfinder: **Rittner, Karola
Märzgasse 3
W-6900 Heidelberg(DE)
Erfinder: Sczaklel, Georg, Dr.
Goethestrasse 36
W-6915 Dossenheim(DE)**

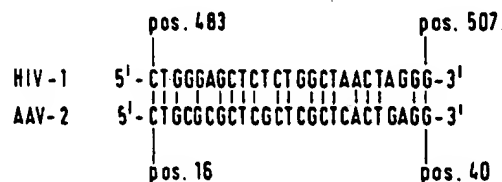
(74) Vertreter: **Aulmich, Gerhard, Dr. et al
Hoechst AG Zentrale Patentabteilung
Postfach 80 03 20
W-6230 Frankfurt am Main 80(DE)**

(54) **Antivirale Aktivität des vom adeno-assoziierten Virus Typ 2 codierten rep-Gens.**

(57) Die Erfindung betrifft die Verwendung eines aus dem adeno-assoziierten Virus Typ 2 stammenden rep-Gens mit antiviraler Aktivität gegenüber dem HIV-1 Virus.

FIG.3A)

Fig. 3



EP 0 486 917 A3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 91 11 9188

Seite 1

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
X	JOURNAL OF VIROLOGY Bd. 64, Nr. 6, Juni 1990, Seiten 3012 - 3018 HEILBRONN, R., ET AL. 'The adeno-associated virus rep gene supresses herpes simplex virus-induced DNA amplification' * Seite 3015, linke Spalte, letzter Absatz - rechte Spalte *	1	C12N15/35 C12P21/02 A61K35/76 G01N33/569 C12Q1/70 C07K13/00
X	VIROLOGY Bd. 161, Nr. 1, November 1987, Seiten 18 - 28 TREMPE, J.P., ET AL. 'Characterization of Adeno-Associated Virus rep proteins in human cells by antibodies raised against rep expressed in Escherichia coli' * das ganze Dokument *	3-5	
X	JOURNAL OF VIROLOGY Bd. 60, Nr. 3, Dezember 1986, Seiten 823 - 832 MENDELSON, E., ET AL. 'Identification of the trans-acting rep proteins of adeno-associated virus by antibodies to a synthetic oligopeptide' * das ganze Dokument *	3-5	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5) C12N C12P A61K C12Q C07K
O,P, X	BIOCHEM. SOC. TRANS., 639TH MEETING OF THE BIOCHEMICAL SOCIETY COLLOQUIA, MANCHESTER, ENGLAND, UK, JULY 16-19, 1991. Bd. 19, Nr. 4, November 1991, Seite 438S SCZAKIEL, G., ET AL. 'Replication of the human immunodeficiency virus type 1 is inhibited by the adeno-associated virus rep gene' * das ganze Dokument *	1-5	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschließdatum der Recherche 22 OKTOBER 1992	Prüfer MADDOX A.D.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X: von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y: von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A: technologischer Hintergrund O: mündliche Offenbarung P: Zwischenliteratur		T: der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E: älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D: in der Anmeldung angeführtes Dokument L: aus andern Gründen angeführtes Dokument * Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	



EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. CL.5)
A	JOURNAL OF VIROLOGY Bd. 63, Nr. 10, Oktober 1989, Seiten 4450 - 4454 BEATON, A., ET AL. 'Expression from the adeno-associated virus p5 and p19 promoters is negatively regulated in trans by the rep protein' * Seite 4453, linke Spalte, letzter Absatz *	2	
A	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA Bd. 87, Februar 1990, WASHINGTON US Seiten 1310 - 1314 VENTURA, A.M., ET AL. 'Silencing of human immunodeficiency virus long terminal repeat expression by an adenovirus Ela mutant' * das ganze Dokument *	2	
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 106, 1987, Columbus, Ohio, US; abstract no. 208564, LABOW, M.A., ET AL. 'Adeno-associated virus gene expression inhibits cellular transformation by heterologous genes' Seite 159 ; * Zusammenfassung * & MOL. CELL. BIOL. Bd. 7, Nr. 4, 1987, Seiten 1320 - 1325	2	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. CL.5)
A	EP-A-0 327 960 (HOFFMANN- LA ROCHE) 16. August 1989 * Seite 6, Zeile 11 - Zeile 22 *	2	
A	EP-A-0 291 893 (E.I. DU PONT DE NEMOURS) 23. November 1988 * Seite 8 - Seite 9 *	2	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchemart DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 22 OKTOBER 1992	Prüfer MADDOX A.D.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument * : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 91 11 9188

Seite 3

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
A	BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS Bd. 169, Nr. 2, 15. Juni 1990, DULUTH, MINNESOTA US Seiten 643 - 651 SCZAKIEL, G., ET AL. 'Specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by RNA transcribed in sense and antisense orientation from the 5'-leader/gag region' * das ganze Dokument *	2	
E	WO-A-9 210 574 (U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE) 25. Juni 1992 * das ganze Dokument *	1-4	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenamt DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 22 OKTOBER 1992	Prüfer MADDOX A.D.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	